

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11)

EP 1 072 686 A3

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:
28.01.2004 Patentblatt 2004/05

(51) Int Cl.7: **C12Q 1/68**

(43) Veröffentlichungstag A2:
31.01.2001 Patentblatt 2001/05

(21) Anmeldenummer: **00109388.9**

(22) Anmeldetag: **03.05.2000**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(71) Anmelder: **Roche Diagnostics GmbH
68298 Mannheim (DE)**

(72) Erfinder:
• **Mueller, Manfred W., Prof. Dr.
3400 Klosterneuburg (AT)**
• **Schmidt, Wolfgang M., Dr.
1030 Wien (AT)**

(30) Priorität: **05.05.1999 DE 19920611**

(54) **Verfahren zur 5'-Cap-abhängigen Anreicherung von cDNAs**

(57) Der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Modifikation, Klonierung und Amplifikation von an ihrem 5' Ende vollständigen cDNAs, welches im wesentlichen dadurch gekennzeichnet ist, daß die Erststrang-cDNA-Synthese in Gegenwart von Mangan²⁺-Ionen durchgeführt wird oder Mangan²⁺ zeitlich versetzt als Additiv zugesetzt wird. Ausgelöst durch die CAP-Struk-

tur am 5'-Ende der revers transkribierten mRNA werden deoxy-Cytosine mit hoher Effizienz an das 3'Ende der cDNA angefügt. In einer bevorzugten Ausführungsform wird im Anschluß an die Erststrang-cDNA Synthese mithilfe von Terminaler Transferase ein kontrolliertes Ribonukleotid-Tailing durchgeführt.

EP 1 072 686 A3



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 10 9388

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|---|---|---|---|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7) |
| X | ROTH M J ET AL: "PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF MURINE RETROVIRAL REVERSE TRANSCRIPTASE EXPRESSED IN ESCHERICHIA-COLI" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 260, Nr. 16, 1985, Seiten 9326-9335, XP002261876 ISSN: 0021-9258 * Seite 9331, Spalte 1, letzter Absatz - Seite 9331, Spalte 2, letzter Absatz * * Zusammenfassung * | 1-16 | C12Q1/68 |
| X | WO 98 48053 A (EPICENTRE TECHNOLOGIES CORP) 29. Oktober 1998 (1998-10-29) * Seite 4, Zeile 20 - Seite 5, Zeile 31; Ansprüche 1-9; Beispiel 1 * | 1-16 | |
| Y | SCHMIDT WOLFGANG M ET AL: "Controlled ribonucleotide tailing of cDNA ends (CRTC) by terminal deoxynucleotidyl transferase: A new approach in PCR-mediated analysis of mRNA sequences" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, Bd. 24, Nr. 9, 1996, Seiten 1789-1791, XP002261877 ISSN: 0305-1048 * Zusammenfassung * | 1-16 | |
| Y | US 5 407 800 A (GELFAND DAVID H ET AL) 18. April 1995 (1995-04-18) * Ansprüche 1-17 * | 1-16 | |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| Recherchenort MÜNCHEN | | Abschlußdatum der Recherche 25. November 2003 | Prüfer Stachowiak, 0 |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |

EPO FORM 1503 03 82 (P04C03)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 10 9388

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|---|---|--|---|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7) |
| A | AMARA RAMA RAO ET AL: "Specific polyadenylation and purification of total messenger RNA from Escherichia coli" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, Bd. 25, Nr. 17, 1997, Seiten 3465-3470, XP002162145 ISSN: 0305-1048 * Zusammenfassung * | 1-16 | |
| T | EP 0 921 196 A (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) 9. Juni 1999 (1999-06-09) * Zusammenfassung * | 1-16 | |
| | | | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7) |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| Recherchenort MÜNCHEN | | Abschlußdatum der Recherche 25. November 2003 | Prüfer Stachowiak, O |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |

EPO FORM 1503 03/92 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 9388

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

25-11-2003

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | | Datum der Veröffentlichung | | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|---|-------------------------------|----|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 9848053 | A | 29-10-1998 | US | 6030814 A | 29-02-2000 |
| | | | AU | 743907 B2 | 07-02-2002 |
| | | | AU | 7142398 A | 13-11-1998 |
| | | | CN | 1261406 T | 26-07-2000 |
| | | | EP | 0977891 A1 | 09-02-2000 |
| | | | JP | 2000513585 T | 17-10-2000 |
| | | | WO | 9848053 A1 | 29-10-1998 |
| ----- | | | | | |
| US 5407800 | A | 18-04-1995 | US | 5322770 A | 21-06-1994 |
| | | | US | 4889818 A | 26-12-1989 |
| | | | AT | 151112 T | 15-04-1997 |
| | | | AU | 656315 B2 | 02-02-1995 |
| | | | AU | 7244491 A | 24-07-1991 |
| | | | CA | 2071213 A1 | 23-06-1991 |
| | | | DE | 69030386 D1 | 07-05-1997 |
| | | | DE | 69030386 T2 | 09-10-1997 |
| | | | DK | 506889 T3 | 22-09-1997 |
| | | | EP | 0506889 A1 | 07-10-1992 |
| | | | ES | 2100945 T3 | 01-07-1997 |
| | | | GR | 3023862 T3 | 30-09-1997 |
| | | | JP | 2968585 B2 | 25-10-1999 |
| | | | JP | 5505105 T | 05-08-1993 |
| | | | US | 5310652 A | 10-05-1994 |
| | | | WO | 9109944 A2 | 11-07-1991 |
| | | | US | 5618703 A | 08-04-1997 |
| | | | US | 5641864 A | 24-06-1997 |
| | | | US | 5693517 A | 02-12-1997 |
| | | | US | 5561058 A | 01-10-1996 |
| | | | US | 5795762 A | 18-08-1998 |
| | | | US | 5466591 A | 14-11-1995 |
| | | | AT | 169337 T | 15-08-1998 |
| | | | AU | 681387 B2 | 28-08-1997 |
| | | | AU | 6329694 A | 01-09-1994 |
| | | | AU | 646430 B2 | 24-02-1994 |
| | | | AU | 7176491 A | 24-07-1991 |
| | | | CA | 2071196 A1 | 23-06-1991 |
| | | | DE | 69032543 D1 | 10-09-1998 |
| | | | DE | 69032543 T2 | 15-04-1999 |
| | | | DK | 506825 T3 | 03-05-1999 |
| | | | EP | 0506825 A1 | 07-10-1992 |
| | | | ES | 2121777 T3 | 16-12-1998 |
| | | | JP | 2790448 B2 | 27-08-1998 |
| | | | JP | 9224682 A | 02-09-1997 |
| | | | JP | 2774192 B2 | 09-07-1998 |
| | | | JP | 5504887 T | 29-07-1993 |
| | | | SG | 46627 A1 | 20-02-1998 |

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 9388

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am

Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

25-11-2003

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|---|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| US 5407800 A | | WO 9109950 A1 | 11-07-1991 |
| | | US 5618711 A | 08-04-1997 |
| | | US 5789224 A | 04-08-1998 |
| | | AT 135741 T | 15-04-1996 |
| | | AU 3062989 A | 11-08-1989 |
| | | AU 632857 B2 | 14-01-1993 |
| | | AU 6391090 A | 10-01-1991 |
| | | DE 68926038 D1 | 25-04-1996 |
| | | DE 68926038 T2 | 17-10-1996 |
| | | DE 395736 T1 | 03-09-1992 |
| | | EP 0395736 A1 | 07-11-1990 |
| | | HK 166096 A | 13-09-1996 |
| EP 0921196 A | 09-06-1999 | US 6399320 B1 | 04-06-2002 |
| | | EP 0921196 A1 | 09-06-1999 |
| | | EP 0922765 A1 | 16-06-1999 |
| | | JP 11225786 A | 24-08-1999 |
| | | US 2002160399 A1 | 31-10-2002 |

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82